⑱日本国特許庁(JP)

多公理出代特金

@公装特許公報(A)

平5-505524

@公表 平成5年(1993)8月19日

⊕Int. Cl. ' A 23 J 3/34 A 23 L 1/395 C 07 K 15/02 独別配号 2NA 庁内監理番号 7236-4B 8214-4B 8619-411※ 審 迕 請 求 朱荫宋 子偏審查請求 有

部門(区分) 1(1)

(全 11 頁)

公発明の名称 タンパク質加水分解物

の特 原 平3-506279 の会出 顧 平3(1991)3月8日 優先権主張 @1990年3月9日@デンマーク(DK):20633/90

愛発 明 者 ダンブマン, クラウス

デンマーク区, デーコーー2860 ソエボルグ, 7 テーホー,, ホ エイエ グラドサクセ 61

⑦出 競 人 ノポ ノルデイスク アクティ ーゼルスカブ アンマーク宮、デーコーー2880 パグスパエルト,ノポ アレ (番助なし)

砂代 建 人 弁理士 青木 朗 外3名

⑥指定 当 AT(広域特許), BE(広域特許), CH(広域特許), DE(広域特許), DE(広域特許), FR(広域特許), CB(広域特許), CR(広域特許), IT(広域特許), JP, LU(広域特許), NL(広域特許), SE(広域特計), US

最終質に続く

19 ポ の 距 団

- 1. Glu及び/又はAsp総合でのタンパク質の理定された特異的な製水分解を得るための方法であって、以下の斡旋を有する群素:
- (a) これせグルタミン酸 (G l u) 及びアスパラギン酸 (A s P) 残态に対して特異的なセリンプロテアーゼである:
- (も)これは15の砂葉タンパク質ぎり少なくとも25cm (本明 知書にて建設する)の比価性を有する;
- (c) これは約23.600の見かけ上の分子量を有する;
- (d) ことロジィソアロビルホスホフルオリデートによって見答されるが、フェニルメタンスルホニルフルオリビによっては辺容されない;
- (e)これは6、5~10.0のpHの超速においてもの最大感転ので 5%以上を基す;

を含んで取り、その他のタンパク重分解信性も実質的に有さない 関係調整品をタンパク質性物質に加え、次いで所証の施水分解の法 求(未発明にて定義される)が得られるまで中差又は弱いアルポリ 位のり目にてインキュペーションし、その検査酵素を通知に不循性 化せしたることによってこのインキュペーションを終了させ、C -火海にグルタをン較又はアスパラギン酸残器を甘ずるペプテドの形 液をもたらす、卵足方法。

- 2. タンパク質分解が悪が、微生物、微に細菌によって産生されるものである対象の範囲第1項記載の方法。
- 3. 記書がB. <u>リシェニホルミス (lichteiforels.)</u> の変異体を さひ、<u>ベクラスリシュニホルミス (lagi(iss lichteiforels)</u>の検 である神水の範囲男な項配取の方法。

- 4. タンパク質分解解系が、図4に示されるアミノ終起列、又は その試理体を育する情況の範囲第1~3 級のいずれかに監監の方法。
- 5. p.5を、タンパク質性物質と酵素調整品とのインキュペーション中、一定に保持する、建攻の範囲算に頂延載の方法。
- 6. タンパク質性物質と耐柔調整品とのインキュペーションを、 再り引っましまも法によって行う、請求の範囲第1項記載の方法。
- 7. タンパク質性物質が、動物性タンパク質、例えば異様タンパク質、カゼイン、肉類のソパク質、無原タンパク質、み血球、節白むしくはゼラテン、又は植物治タンパク質、例えば大豆タンパク質、砂頭タンパク質、例えば小麦グルチンもしくはゼイン、水たねタンパタ質、むらさきうまごやしタンパク質、えんどうタンパク質、マリ科タンパク質、褐の実タンパク質又はごまの実タンパク質から成る群から選ばれる、様本の範囲第1項は単の方法。
- 8、タンパク質性物質に加えられるべき酵素の量が、6.05~ §5cpu /タンパク質100g、特に0.1~5cpu /タンパク質 100gの範囲内にある、緑木の銀通路し項配取の方法。
- 10.第一のテンパク変分解研究に加え、他のテンパク変分解研 素をテンパク変性物質に加える、特定の範疇第1~5項のいずれか に記載の方法。
- 1.1. 他のタンバク質分解酵素が、トリブシンおよびトリプシン 一般プロテァーゼから成る舞から透ばれる、薄珠の面面原10項記載の方法。
- ! 2. 第一のタンパク分裂体素が、 0. 05~5 cpg /タンパク

<u>-1 --</u>

DEST AVAILABLE COPY

質1068の延囲内の量では入られ、きらに第二のクンパク分配酵素が0. 1~16cpa /タンパク質1008の範囲内の量で加えられる、様次の範囲第10点に必要しては。

13、タンパク質加永分解物であって、以下の特徴を有するタンパク質分解解素:

- (a) これはグルタをン紋(G! c)及びアスパラギン殻(Asゥ) 残者に対して特異的なセリンプロチアーゼである;
- (b) これは18の辞漢タンパク質別り少なくとも25cgu (本明 遊書にて定義する)の比値性を有する:
- (c) これは約23.500の見かけ上の分子量を有する:
- (6)これはジイソプロピルホスホウルポリダートによって返答されるが、フェニルメノンスルホニルフルボリドによってな図書されない。
- (e) これは6.5~10.0のp H の範囲においてその長火衛性 の7.5%以上を示す;

を含んで取り、その他のタンパク質分解確定を支置的に関さない 経常研究品によるタンパク質のGIU及び/又はAsp貼合の情報 的なで水分解の効果としての、C-収塩にグルタミン級又はマスパ ラギン放送さぞ有するペプテドより本質的に成る、病影タンパク質 知水分解物。

14、タンパク変性物質が、動物性タンパク質、例えば乳性タンパク質、カゼイン、肉類タンパク質、魚類タンパク質、奈丸は大田身、卵目もしくはポラテン、又は随物性タンパク質、例えば大田タンパク質、製類タンパク質、例えば小裏グルテンもしくはゼイン、なたねタンパク質、むらをおうまごやしタンパク者、えんどうタンパク質、マメ科タンパク質、動の実タンパク質又はごまの実タンパク質がようながから遅ばれる。請求の範囲第13項配数のタンパク質が水分

持表平5-505524 (2)

23 Or .

- 13. 高い比率の1000~20.060の超別、計ましくは 1000~10.00の知例における分子至を存するペプチドと、 はい比率の約1000条件の分子量を有するペプテドを含んで使る、 は収め延露第13項記載のタンバク費加水分解物。
- 16. タンペク質のG(取および/又はAsp 町台の特異的版水 分解の結果としてのC-東近にダルタミン数又はアスペラギン数残 基を有するペプテドとは別に、タンペク数のもままおよび/又はA sp 延合の特罪的加水分解の結果としてのC~東端にLysおよび/ 又はAra級差を有するペプチドを含んでなる、健康の範囲第13 項別をのサンパク質加水分解物。
- 17. 洟い比率の分子重1000-10.000を目するペプチ ドおよび思い以率の分子要約1000元素を育するペプチドも合ん でなる、糖水の電面素16項記載のタンペク質加水分解物。
- 13. 請求の範囲第13~15項のいずれかに記載のタンパク質 加水分解制を会んでなる食品。
- 19、検求の範囲係16叉は17項記載のタンパク質加水分解物を含んでなる生品。
- 20.1種以上の脂肪減却よび/又は1種以上の皮水化物源を、 翌に含んでなる、清末の範醛終13又は18項記憶の食品。

明 紙 🔮

タンバク質15米分別気

発明の分裂

本祭列はタンパク質の限定された特異的な別水分解を得る方法、この方法によって扱られるタンパク質加水分解物、及びこのタンパク質加水分解物を含む支品に関する。

発明の背景

プロチアーゼによるタンパク質の研案的加水分解はもとのタンパク質の改要価を促落するタンパク質加水分解物を偏認する。良好に確立された方法であり、従ってこの方法は基本の食品に存在するそ分は受の全長タンパク質を摂取もしくは消化できない一定の患虫の大力で受けるため、又は使足のためのミルク代替物の栄養気を向上せしめるために利用される。更に、タンパク質な水分解物に下の栄養気品のためには就的に利用されていてい起源から調整されることができ、そして例えばそれ自体の食品として又は低の食品への恐加利のいずれかとして利用されるる。

今日空このタイプのタンパク質和水分解物の調整のために利用されているプロテアーゼは、広い特異性を有するプロテアーゼ、例えばバケルス リンスニネルミス (agsillus lightellorsis) アルカリゼプロテアーゼである。広い特異性を育するプロテアーゼを用いたときに出くわず主たる問題は、しばしば生成されるタンパク質和水分解物の強い液味にある。この密味は、最柔された彼水はアミノ酸性基を有するペプチャの形成ももたらず、凍水性側板を有するアミノ取でのタンパク質の切断の結果である。全点タンパク質又は長

めのベプチドにおいて、このは水性調磁は、折りたたまれているタンパク質内にこの関数がかくれてしまうタンパク質分子の三次構造に差づいて装立しづらい。小さめのベプチドがタンパク質分子のタンパク質分子のタンパク質分解的切断によってが攻まれたなら、この確水性例以は最終され、従って近づく実数上の耐水性及び観水性レセプターに受けられやすくなる。この現象が苦味者生じせしめることが分っている(B. Mieser and B. - D. Belits, 2. Lobas, 2. Uniter . Forsch. 2 5.9.
1975、頁65-72:及びB. Wieser and B. - D. Belits, 2. Lobas, 2. Uniter . Forsch. 2 5.9.

このチンパク質加水分解的の苦味の問題を、出路タンパク質の折水分解の程度を限定すること、即ち、プロチフーゼによって切断されるペプチド組合の数を限定すること、例えば加水分解の程度をモニターし、もして通切な加水分解の程度が持られたならこのタンパク質分解反応を止めること(例えば、J.Adler-Nthiason_Leathin_field Calfale of food fraining.hpp?!od Science Publishers.hondon 1986を影響のこと)によって解決することが豊富されている。このような加水分解物は、少なくともそれらが含まれている食品の他の構成成分と一緒になって、弱かられた密味を示すことが見い述されている。

型水分解の程度をコントロールするその他の方法は、タンパク質 分子を一定のアミノ酸残器でのみ切断する特異的なアロテアーゼを 利用することにある。これは1、E.ChotertioのJ.Agric.Pood.Chos. 3.6. 1988、質220-224に確認され、これにはタンパク 質をグルタミン酸及びアスパラギン酸氏器にて、医腎臓のに加水分類せ しめるスタアルロコッカス アウレウス (S14ph. ユビョス ュ) ソ8プロラアーゼの利用が報告されている。

特表平5-505524(9)

発明の概要

聚くべきことに、<u>バナルス、リシュニカルミス</u>プロテナーゼはグルタミン関及びアスパラギン酸疾素に特異的であり、髪ってタンパク質加水分解物であってそれ自身は管味を有きないものをもたらす、タンパタ質の限定された十分なる加水分解を選択することができる。彼って、本処別なび!以及び/又はA」P 結合でのタンパク質の限定された特異的な加水分解を持るための方法であって、以下の等徴を有する問題:

- (2) これはグルタミン酸 (GJu) 及びアスパラギン酸 (Ase) 狭茎に対して仲契的なセランプロテアーゼである:
- (b) これは1gの酵素タンパク質量の少なくともできcon (本明確書にて発験する) の比較性を有する;
 - (c) これは約23、800の見かけ上の分子量を訂する:
- (d) これはジイソプロビルカスはフルオリデートによって間等 されるが、フェニルメダンスルカニルフルオリアによっては図客されない:
- (e) これはも、5~19、0のp8の範囲においてもの最大型性の75%以上を示す:

を含んでなり、その他のタンパク質分類活性を実質的に有さない 酵類調製品をタンパク質性物質に加え、次いで所認の加水分解の程 液が得られるまで中能又は切いアルカリ性のタドにでインキュペー シェンし、その数値解素を透切に不活性化せらめることによってこ ロインキュペーションを終了し、C一末幅にグルタミン酸又はアス パラギン放鉄基をおするペプチドの形成をもたらしめる方法に間違 する。

上記に立載したタンパク量分類酵素は、<u>パナルス リシュニネル</u> 3.スによって全应されるスプチリシンA (Scolliss)

A) 亚来路朝として、米国特許第4.286.531 号において既に弊政村 **せされている。しかしながら、この米団特許においてこの研究の特** 質的なタンパク質分解過性の記載はなく、疑って本発明のタンパク 質加水分解方法におけるその有用性はこの特許におけるこの酵素の 関示合体によっては予防できない。本発明に違い、驚くべきことに このタンパク質分類酵素はCic及びAsp残器に対して粋報的だ 辞者であることがわかった。この性質は本書的に関して重要であり、 なぜならこれはタンパク質のGlu及び/又はAss強益での限定 された、豆つ籽料的な加水分解を提供するからである。このような アミノ放送なは奴水性であり、虫皮される飼い在味のタンパク質型 水分解物をもたらし、従ってこれが超込まれている会品の味に何ら 悪い影響を及ばさない。本発明によって生貌される苦みのないタン パク質加水分類物は、それは井口立品として利用されることも可能 とし、そしてそれが担心まれうる食品の健康を、例えば効果のため のミルク氏神品のような温制な味のもの食むまで広げることも可能 253.

本羽田書において、「熱水分解の程度」なる話は、このタンパク 質分解制器によって何勤されるペプチド的合の数を示すものと理解 される。初水分解の最大の程度とは、むろんタンパク質分子におけ る実質的に含てdG」u及びAsp程準での切断である。加水分解 の程度は、J.&tdur-Nissorの<u>J.kgric.Food Cbca, 27</u>。1979. 現1256に単純のよりユトロベンゼンスルカン酸アッセイを用い る、下記の例2において抑郁の通りに認定した。

並って、本方性において用いるタンパク質分類酵素は、例配の J. ーは、Chobersらによるタンパク質の限定された加水分類の ために現実された<u>Staph</u>。<u>アウレケス</u> Y 6 アロテアーゼと頻识 の特異性を育する。しかしながら、 Y 8 アロテアーゼは本方性にお

いて利用するタンパクな分解酵素よりも危性が弱い、即ち、これはその差異に対して弱い気和性を有するといういくつかの対象を有する。カゼインの加水分解による彼らの観告において、この原否は4 8時間のインデェペーションの状にも、7気度度の加水分解しかほられなかったことも示している。

発明の終緯な疑明

本方住において利用されるタンパク質分解酵素は厳生物、枠に留 値によって生産されらるものでよい。このような病態は<u>パチルス ウシェミカルもス</u>の株、研えばスプチリンン人及び前配に定極した タンパク質分解酵素に相当する他のでロテアーゼを生態することで 知られる味でありうる。この場合において、このタンパク質分解酵 度は、後に中離すべきアルカリ性でロテアーゼの生産を励をせしか る条件のもとでこの細胞性を応援し、その後このプロテナーゼの性 物質を円知の方法、別えば前記した米酸特許類4.256.931 分に終知 のプロセスによって過期することによって調度されらる。

に採用の通りによって行われうる。このタンパク安分解除素は、この付款者を定定する簡単物、例えばパナルス、<u>リシュニホルミス</u>の c D N A 又はゲノトライプラリーからD N A 延済を思難し、このD N A 型別を適切な現代々クチーに導入せしめ、このベクターによって選挙な行生被生物を段気軽減せしめ、この辞業の出産を耐量せしめる条件のもとでこの信室を増進せしめ、そしてこの信養物からこの辞書を可収せしることによっても提供される。これらの工程は極端の方法によって行なわれるそ。T. Marlatisら、1014 で21c Clasing Laboralary Hangal Cold Spring Jarbor、1982を発展のこと。

本プロセスの特定の感情において、このタンパク賞分解辞者は然 付した図4において示すアミノ敵配対又はその関係がを有するもの である。

本明用電において、「供承体」なる語は、欠数タンベク蛋のCー及びN-未均のいづれかもしくは預方に!もしくは複数値のアミノ 数を付加することにより、灭然アミノ敵医列における1もしくは複数の異なる部位での!もしくは複数のアミノ敵の選旋によう、天然 判における!もしくは複数の部位 での!もしくは複数のアミノ酸の欠免により、あるいは天然アミノ酸の押人における!もしくは複数のアミノ酸の欠免により、あるいは天然アミノ酸の挿人により、この研究のタンベク質分解否性がこれによって設備を受けていないことを条件として、天然野家の今歌馬されたタンベク質分解的景を意味するものと 世界ぞれる。

四水分解反応の際、このインキュペーション配合物のp i は中地 又は紀千フルカリ性であるときに、ペプチド結合の切断に基づいて 下がる均向にある。加水分解の程度をモニターするため、ある物理

转表平5-505524 (4)

の思縁において、このタンパタ質性材料とこの原裁調整品とのインキャペーション中にpHモー窓に頂つことが好ましい。これはこのインキェペーション混合物を堪塞、例えばNョOH、KOH、Cョ(OK)、又はNH。によって頂定することによって行われける。pHのモニター及び講定はpHースタットにおいて自動的に行うのが好感合でありうる。

他の特定の結構において、作りイスクットは、即ち、このタンパク 受性材料とこの政策消製品のインキュペーションの際に 9 代を一定に保たせないの永分解を行うことが好ましい。この地域において、
可水分解の程度は加水分解の際の最適正の上昇を拠定することによって容易に追募することができる。

本方法によって有可に加水分解されるるタンペク質性物質は世染の文献における加水分解のために挙げられている任意のタンペク質及はタンペク質性物質でありうる。適切なタンペク製造物質は動物性タンパク質、たとえば気壁タンペク質、カゼイン、肉類タンパク質、加減タンパク質、前山は、昨日もしくはゼラチン、又は植物をタンペク質、引えばダイズタンペク質、数類タンペク質、のえばウレタンペク質、入んどうタンペク質、マメ科タンペク質、別の実タンペク質又はごまの来タンパク質である。

十分な知水分解の起度を得るため、このタンパク質加水力解酸機をこのダンパク質性物質は、6.05-15cpm/タンパク質160ま、特に0.[-5cpm/タンパク質100まの差において加えることが通過でありうる。確立されている予定に従い、このタンパク質分解酸素を、このインキュペーション連合物の過度を約70で以上に減めることにより、又はこのインキュペーション進合物のP6を約5.0以下に下げることにより不径性化セレめることが通知

でもりうる.

上記に定能したタンベク質分解的無単語で得られるものようら高い部外外所の経度、即ち、酸素の日便で可得性であるより高い収置のペプチドモ必要とする目的に関して、 葉くべきことにこのタンペク質性の質に他のタンベク質分解酵素を指えることが有料であることが見い過せた。この更なるタンベク質分解酵素は、上記に定数したタンベク質分解酵素と同様に、 製水物では、砂に口・ロスは、は、以外の製水性でも、製剤のならのであることが好ましい。 適切な サイン 以外の製分解除器の前はトリブンン なび人でまり リブンンとはまったびパッ リブンンとはまったびろった というできていべてを手続合を特異的に切断するプロチャーギである。

「トリプシン一様アロチアーゼ」なる語は、トリプシンに似た特異性を指するプロテアーゼを重視することを意図している。選当なトリプシン-排プロテアーゼは<u>フラリウム(Pusarlum</u>)(努えばW089/062とができるプロテアーゼである。

このタンパク質性を関告系1のタンパク質分解解離及び更なるタンパク質分解解性の両力によって加水分解をしめるとき、このタンパク質性物質に加える解素の対応の量は、第1のタンパク質分解酶業に関しては3.05-3cm /タンパク質190gであり、そして更なるタンパク質分解酵率に応しては0.1-19cm /タンパク室350gの発酵であることが通句である。

他の観点において本発例は、以下の考徴を有するタンペク製分解 辞史:

- (a) これはグルタミン酸 (Clu) 及びアスパラギン酸 (Asp) 選擇に対して特異的なセリンプロチアーゼである」
 - (b) これは t g の研究タンパク質当り少なくとも2 5 cou (本

羽延事にて定義する) の此语性を有する;

- (c)これは約23.600の見かけ上の分子量を実する:
- (d) これはジャソプロビルホスホフルオリデートによって田客 されるが、フェニルメタンスルポニルフルオリドによっては囚守されない;
- (c) これは 6.5~10.6の p H の範囲においてもの最大情性の 7.5 %以上を示す:

を含んで飲り、その他のタンパク質分解的飲む実質的に何をない 詳素調製品によるタンパク質のGlu及び/又はAsp結合の特異 助な加水分類の結果としての、G-主流にグルタミン殿又はアスパ ケギン酸競技を有するペプチドより本質的に変るタンパク質加水分 編集に関連する

通知なタンパク質の過源は、タンパク質の知水分解に通常用いられる任意のタンパク質性物質、例えば前記したもの文はやの数合せでありうる。

本発明に従い、相対的に高い出事の高分子量ペプチド及び相対的に係い出導の混分子量ペプチドを有するタンパク質加水分解物は、高い出事で極分子量ペプチドを令む加水分解物よりも有寒に利い苦能を有することが思い出せた。上紀に定該した特定のタンパク質分解論要を知いることにより行われる政立された特異的な風水分解は、この行ましい置量循環におけるペプチドを提供するのにかよく透する。従って、本発明のタンパク質和水分解物は、高い比率の100~20、00のの範囲、特別しくは1000~16.00のの範囲における分子量を有するペプチドで、低い比率の約100米減の分子量を有するペプチドで含んで成ることが発表しい。

特定の周報において本発明は、タンパク質のG 1 u 及び/又はA a p の結合での特別的な部本分解の結果としてのC - 未満にグルタ をン成又はアスペラギン酸酸医素質するペプチドとは別に、タンペク質のして、及び/又はAFBの総合での特殊的な加水分解の結果としてのC-東端にしてを及び/又はAFB医素を有するペプチドを含んで成るタンペク質加水分解物に関する。このタンペク質加水分解物は、加水分解物の高い程度の加水分解を必要とする理的、例えばタンペク質違物としての数料に加水分解物を含ませることを簡的とするときに分によく道する。商配した通り、加水分解の認識の上昇はタンパク質性物質を他の特異的なプロテアーで、例えばトリアンによって加水分解でしめることによって通りに移るからであることの個人であるこの個合において、この加水分解物は、高い近率の1000元目の10元目を有するペプチドを振切に含んで成りうる。

要なる数点において本条例は、本角別のテンパク質加水分容物を さんで成る食品に関する。このタンパク質物水分解物はCIログム sp特異的プロテアーゼ単独により関鍵されたものであっても、又 は前記した選りしょ。 / Ars特異のプロテアーゼによる更なも が分解によって顕越されたものであってもよい、タンパク質加水分 解物を合む食品は先行の文配から関処であり、これもの中にはこの 加水分解物の存在によって生ずる意味の問題も記載されている。

本知明の言葉な食品は、建設な患者であって連帯の食物を介してはほらの必須及長をはとんど又は全く摂取できない者のための食質炎長者である。このような食品において、本発明のタンペク質数水分解切はしば以ば、のタンペク質性成分となることがあり、なぜならな気がのタンパク質数水分解的の音楽のなされる。このタイプの食品における合有色として特には集まれるからされる。食質炎養養品にはしばしばは年又は半球体であるため、それに含まれるタンパク質数水分解物は高減度の可含性ペプチドを含むことが好ましい。

转表平5-505524 (5)

せって、高い収量の可存性ペプチドを降るため、タンパク製性出発 物質をGlu/Asp特異的プロチアーゼ及び到記したレッシ/A でも発発的プロテアーゼの両方によって超水分解せしぬることによって調整したタンパク質加水分解物を含むことが認ました。

支品に含まれるタンパク質加水分解物の量は食型的には 1~30 食量外の範囲であろう。位方、本発明の食料用食品は米固修許知4. 100.024 号叉はヨーロッパ特許明由書頭248.747 号に詳細の通りに 実質的に作られうる。従って、この型品は更に最勤及び/叉は炭水 たむの辺当な起源を含みうる。強助の適当な起源は例えば植物放 (例えばトウモロコン又はセマワリ波等)でありうる。皮水化物の おきな起源は例えば増加、例えばスクロース叉はラクトース、加水 分割が入り、マルトデキストン等でありうる。食製類がは治力の 気に対し、例えば、サ味料、ビタミン、ミネラル及び飲量元素 を里に含んで成りうる。

本規則の他の重要な食品は幼児のためのをルク代替品である。このモルタ代替品はこのタイプの製品に翻する先行支献(例えばこP122、589号)において示されているのと実質的に同じ方性であるが、但し高知の製品に含まれているタンパク質加水分解物を本意別のタンパク質分解物に代えて作られる。このタイプの製品において、本タンパク質加水分解物ので味の定さは明らかに呼称合であり、なぜなら幼児は空味を有するミルクを非常に嫌うからである。この場合においても、C10/人1で特異のプロケアーズを及びしァッ/人1を特異的プロケアーでの内がによる出来タンパクをしまった。よた別の加水分解物は低下レルゲン性よルク氏特品の有利に含まれることができ、この加水分解物は低アレルゲン性よルク氏特品の有利に含まれることができ、この加水分解物は食長ミルクタンパク質よりも有窓に低いアレルゲン性を有する。

本た時の食品は、食品特定物として、又はこの食品に他の性質が登録されるために本発明のタンパク質加水分解物を含むこともある。低って、この食品に含まれるタンパク質加水分解物は例えば、正控サレンな骨を本発明の対処によってClu/Asp特別的プロテアーでよって処理せしめたの、首から得られるカンでで、では、他級的に目取せしめた内、即ち、度似場において健康した動物から切り取った過去の内片のほと残っている資上の内にから対力ない。以外に大きな場合と対し、以外については、本出期人の履行系統の終出頭をCT/DK89/600272を参照のこと)に基づいてよい。次いて、得られたタンパク質加水分解物を透切にミンチミート製品、例えばソーセージ又はバテに加えてよい。

本発明の支品は、タンパク質内容的の一部又は会てが指制及び/ 又は肉質タンパク質に基づくタンパク質加水分解制より成るベビー フード製品であることもできる。

図面の簡単な数別

本発列を繋付した図面を参照しながら以下の例において更に配明 し、ここで:

図(は、SP446プロテアーゼのp Fi 活性を示し: 図2は、トリポリリン酸ナトリウム(STPP)の芽花下(BB 角)及び赤存在下(属目角)におりるSP446プロテアーゼの温

変活性を示す囚であり:
図3は、3P446プロテアーゼによるインスリンの切断を示し;
図4は、3P446プロテアーゼのアミノ酸配列を示し(ここで
ブミノ酸は確立された一文学コードで示している); そして

図5は、乳酸タンパク質環府物の3P445油水分類に由来する、 核液、浸透圧及び塩蒸消費データーを示す

€i

<u>バチルス リシュニナルミス</u>SP446プロチアーゼの特徴付け <u>5P446プロテアーゼの</u>吸率

アルカラーゼ (Alcalase: 商法) PPAI615を満層 勢許第4,266,031 号に終題の通りに複製した。積製したSP4A6 プロテアーゼの奴隶は、毎番としてCTZードカる~しませーC(u-pNA (Boshringer Manaheim) を用い、 **比殻及び捕製SPAA6プロチナーゼの群業衝性を測定することに** よって決定した。この耐薬器製品において存在するスプテリシンス を不后抵化せしめるためはフェニルメタンスルよニルフルオリド (1:10容者)を加えることが必要であり、なぜならスプチリシ ソAは引ろかにPieェ又はもcゅの後3を切断せしめることによ ってこの巫覚を分解することができるからである。出党物質(10 ol) の耐気遊洗はパーキンーエルヤーランダーくPerkin-己 imer lamaa) ?- #- # - # 85 04/010. /41 70 吸光皮として微定され、そして166、920であると満定された。 精製物質(3 [p])の耐素物性を模様に測定し、そして15 8.7 20と決定された。使って、SP446プロチアーゼの収半は85 %であった。

タンバク賞分解活性

3 P 4 4 6 プロチアーゼのタンパタ質分界質性を、衝質としてポポインを用いて限定し、2 T cpc / 8 を得た。)カギインプロチアーゼ亜位(cpa)は、以下に記載する如く、便単変件で、毎分割シアもノ基の!できまれを放出する野栗の量(もりン様体との比較に

より決定)として定義される;

カゼイン(ハマルステン(登録密度)、メルク社、ダルレスタット、PRG)の2列(W/リ)資産を、ブリトンおよびロビンソン(J. Chem、Soc. 1931、P1(31)によって起戦をれるユニパーサル技術後を思いて異似し、ph9.5 に動脈した。2010 整貫溶液を25でで)6分間水密中で予じめインキュベートした。ユニパーサル現所後(pHB.S) Lat 置か、対の.2~0.3 cpx に抵当する、弱数 Lai 当り00を合行する1 c(の酵素溶液を蒸放する。25で30分類インルスペーション後、急冷剤(17.98の重進化酵散、29.9 のの助数ナトラウムおよび19.8 8の助数を含むし、数イボン水で500に1とした溶液(51)を添加して反応を存在し、数イボン水で500に1とした溶液(51)を添加して反応を存在する。ブランクは、皮肤溶液(20)を1とした合性フトマン42の増延で強速する。この分質力法を起処するパンフレットは、要求によりメポノルディスク社(デンマーク図)かも入学できる。

第一アミノ盗者、次の知くローフタルジアルデヒド(OPA)を 用いたそれらの発色によって規定する!

7. 32 8 の別立り設ニナトリテム10 本和物および2.08のアダシル破散ナトリウムを150eiの水中に存解する。次いで4elのメタノールに付好した160elのOPAを、400と1のオーメルボブトエタノールと共に添加し、次いで調達を水で200eiにする。3 aiのOPA試剤は、混合しながら、上記で持られた強減400ヶに各続加する。340eeでの光学液球(OD)を約5分後に設定する。また、OPAテストを、100elのユニバーテル環衝液(pH9.5)中に10eeのセリンを有するとサン環境速を用いて行う。プロチアーゼが付定攻攻を用いる節環域から計算する。

cpu /酵母溶板 (el) : (00.-00.) × C... × Q (00.-00.) × MW... × Q, cpa /酵母製剤 (8) = cpe /el: b

<u> 戸出密性</u>

SP4 4 8 プログアーゼの短枚の 5 日 依存性を、上記のOP A カゼイン他で規定するか、値し、ユニバーサル機能感を健々の p 以値、プロガラ 5 日 6 7 日 7 8 . 3 . 1 0 および 1 1 に関節した。結果を図 1 に示す。この図から切らかなように、SP 4 4 6 プロテアーゼ は最近 p 以もりは 8 ~ 1 0 の 個別に有する。

鱼度疫性

SP445プロテアーが密性の過度依存性を、上記のOPAのでイン格で選定した。

但し、酵素反応は、増々の温度、すなわち、15℃、30℃、40℃、50℃、60℃および70℃で行い、酸素反応は、多くの酵臭上の物剤中、通常の機制である0。1%をり引りりと酸ナトリウム(STPP)の存在および非存在でで行った。種類を図2に余す。この図から5P446でロテアーゼは、5でPPの存在知何にかかわらず、約50℃の量度及度を有する。

GLU特界性

SPもも6プロラアーゼロロ! 4件異性を次の知く測定した: ニニパーサル機衝液(p fl g 、 5、同上)中!mg/alにトインシ

金なアミノ酸配列を図る以表す。

このアミノ酸配列に近づいて、SPも46プロテーアゼの分子重は、23.600でわった。

DFPによるSP448Tロナフーゼの不然性化

PMSP(イソプロバノール中1%)と共に酵素を1 対1 8(容量化)の割合でインキュペーションすると、5 P 4 4 6 プロテアーゼの不否性化は何も生起しなかった。しかし8 0 s 1 の 1 0 n M M O P S (p 57 - 2) および1 0 s 1 0 0 0 1 M ジイソプロビルメスホフルロリテート (D P P) と此に10 ni(1 m s / ni)の酵素のカスはインテュペーションすると、数質C B 2 ー p n c ー L a o C i u ー p N A に関するその否とによって測定される如く、酵素の完全な不知性化がもたらされた。

类版例 2

異類タンベク質の加水分解

80 Qalの設イオン水に揺棄した?5 gのスプレー乾養先費タンパク質 (Lecyrodan-20, タンマークアロタイン A/S, Be, Ylus. 6 g 2 Oビデバック、デンマークより人手可能) に、5 P 4 4 8 プロテアーゼネよび閉塞上のプトリアシン (Paecress Eryosia Nove 6.03, ノボノルゲィスク社より人手可能, 対照として同いる) の 1 0 0 g のタンパク質当り 1 4.7 cpu をそれぞれ総却した。プロテアーゼを、インフォメーションシート No. B 1 6 3 1.1 9 8 4 年 3 1 月、「Ese of food Grade Alcainse" or Nourrage" for Controlled Busymatic Optrolysis of Proteins.」と優重されたシート(ノボノルディスク社より要求により人手可能) に記載の知られた中のより、表質タンパク質と対して測定された加水分解の程度は、3 P c 4 8 では 1 2.

社表平5-505524 (6)

ュリン0. 5mlをよび高級状態中75mlのSP446プロテアーゼ(0. 6cpc /1) を、37%で120分割インテュペートした。50mlのINHCIを採加して反応を停止した。

インシュリン分子を、多数のアペチド既片に分譲した。これらを分類し、適当なビー19カラル(ハイバーラク12ソープRPー18、メルク社製の5ヶの粒子)を用い、連続百PLCにより集製した。取分を次の統訂で60分類にう配容製した。

A. Q. 2 知の収削ナトリウムおよび G. 1 Mのリン酸: P B 2. 5 1

B. フセトニトリルン水、50%:

- 競技グラジェントは90%A/10%Bから00%A/20%Bであった。

分離した低冷心、アプライドバイオンステム(フォスター社、C A、USA)モデル470A気材シーケンケーを用い、自動エドマン分解によりアミノ酸配列決定旋覆に優ね、大いでフェニルチオと グントイン(PTヨー)アとノ強を、5. テム等「tecretion of heman marslin oy a transformed yeast cell, PBBS Letters 212 (2), 1987, p.307」により配数される助く、計Pしてにより分析した、イソシュリン分子の分解的社は、図3に示される知く固定される

N-京海アミノ限定列

複数SPも487ロナアーゼのN-末海アミノ級配列を、次節で記載の知ら決定した。N-末端配列は、次の如く決定した:

1 4 1 C 5 D D R T R 7 T N T T A Y M T R -

完全なフミノ酸胚列

| 変生な?ミノ酸配列をDNA配料から決定した。DNA配列は、「完明の終組な説明」の節で記載の知く極端の方法で決定した。 発

1%であり、トリアシンでは ! 0。 4%であって(%はタンパク室 中のペプチド結合の全数から計算する)

SP446に対する実験結果は、表!および図5に示される。

英 !			
時間 分	粒皮 apar s	A 泛流流的量中 A 港度	受託差型 40年 16
120 120 120 120 120 120	22224 259.04 259.04 249.72 249.72	92 92 94 99 100 1102	005555058 1-397599 6-00000000000000000000000000000000000

加水分解度は次式によって計算で出る。

クンパク蟹中のペプチド箱合の金数は、そのアミノ酸磁域から計算できる。分解したペプチド箱合の数は、ドリュトロペンゼンスルルン酸(アド85) を用いた次の方法により水溶物中のローマミノをの分析がも決定できる。

取くべきことに以下の内容が見出された。 SP448によるれ数タンパク質の数水分解は、変を混合物の投度増加をもたらした。このことは、数水位であるグルタミン数およびアスパラギン数を含むペプテド粘合に対する SP446プロテアーゼの特異性に規則するか、又は水解物中のプラスティン便変に感受するであろう。 塩塩脂 大なが 大な水解 の一定地加水分解中一定には増加しないことは注意を必要され、このことは確常的加水分解中では速度配置を と、進度は、表別の30分形で地域でで速速を と、機能の増加し、大いでで速速度を と、機能の増加 が比較的中るやかになる同じ当てその最大に達する。

实态例 3

SPdd6アロテアーゼを用いた大豆タンパク質の加水分解 4 0 0 0 mlの大豆タンパク質価格動の懸成液(この低温液は約 8 %タンペク質(N X 6、25)を含むする)を、5 P 4 4 8 アロテ アーゼ (27cpu /8群業のり、し%) および産業上のトリアシン (パンタレアストリアシンNOVO 3、05、ノボノルディスク 社より入手可能)(2%、3、3cpu / s)の落合動を思い、 2日8、9および50℃の温度で放水分解に要ねた。9月-スタッ ト(まちょり)(ラジオメーター、オペンハーゲン、デンマーク質) を思いて監視した加水分解中、9Hを4M NaOHを抵加して-定に保持した。2時間加水分解後、加水分解度(先に定義)を認定 し、14%を得た。次いで88 HC1も然知して、7日4、2に し80案を失据させた。次いで、加水分析混合物を、助剤として建築 止も月いは紅を遠して上没みをデカントでる前に30分間放置した。 裏勢を改善するため、上急みを3~4秒間140℃の加熱し、発統 各真蛮富内にプラッシュした。更に、生成物を8.5.オルモルおよび 3. アルゲーニッセン「Application of Bitrs- and Myserflites-

特表平5-505524 (7)

tion 25 during production of enzymatically modified proteins. ; ASC Symp. Ser, 156. ap.(33-169) に記載される如く数数した。

対限の未詳物を、上記の如く研覧したが、但し、1.0%のアルカラーで(Sicarose登録式事)2.41(54人U/36タンパク費分解信性に対応するケンパク質の生産に関して計算)をタンパク質の組永分解に関いた。

かくして得られたタンパク質を移動(3.5%四後)を、苦味に 対する通常の正常は就において比較した。主任をは、二種の住成物 の苦味における選集は著しいものであると判断し、更にSP446 およびトリプシンで調整した永鮮和を許ましいものとした。

SP446および懸案よのトリアシンの複合励を関いた大豆タンパク製機時初の加水分解は、反応温金数の結束増加をもたらした。このことは、親水性であるグルタネン散およびアスパラギン軟を含むペプチド給合に対するSP448アロテアーゼの特異性に接近するか、又は水解物中のブラスティン反応に帰因するであろう。

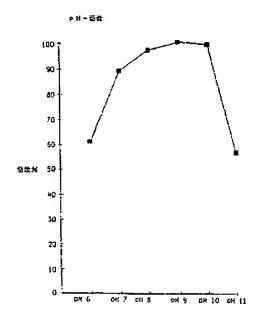


Fig. 1

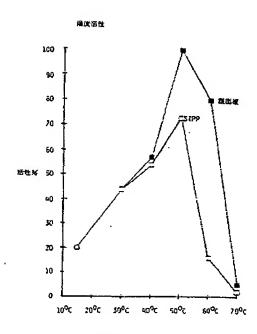


Fig. 2

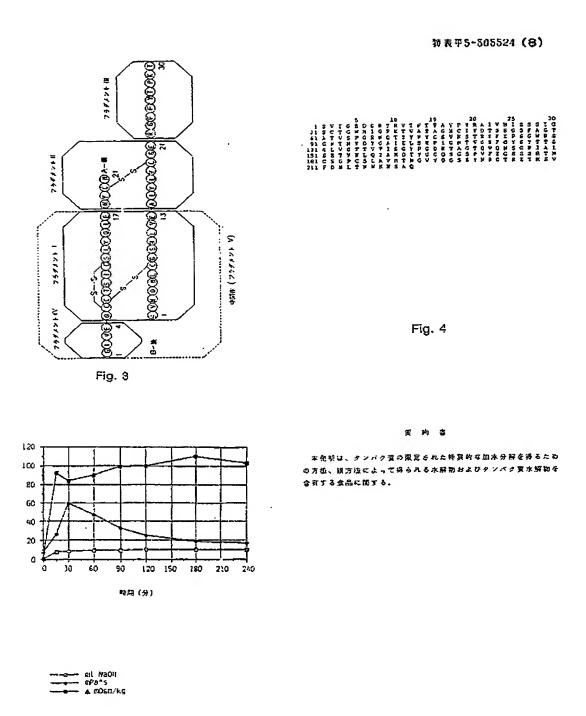


Fig. 5

转表平5-505521 (9)

時本の低田

様正書の朝廷文集出書 〈特許拉斯184条の8)

平成4年9月8日

特許が長官 犀 改 液 散

- 1 特許出顧の表示
 - PGT/DK91/00069
- 2 発明の名称
- タンパク質加水分解物
- 3 特許迅暖人
 - 住 所 デンマーク目。チーコー-28GG バグスパエルト。 ノギ フレ (着性なし)
 - 名 称 ノボ ノルティスク アクティーゼルスカブ
- 4 代 厘 人
 - 生 府 東京都港区内ノ門一丁目8季10分部光成ノ門ビル 〒105 電路(3504)072!
 - 民名 办理士 (6573) 青末 剪 (支票的
- 5 将正書の発出年月日
 - 199242月21日.
- 松島の販客作品 3 文活路の豊地路



s - v - i - a - s - q - q - c - c - c - r - v - t - a - t - t a-y-p-y-r-a-j-y-h-5-s-s-s-s-ss = c + L - g - w - m - l - g - p - k - t - v - a - t - s g - h - c - i - y - 6 - t - s - s - g - a - 1 - a - g - t -* - t - v - s - p - g - r - n - g - t - s - y - p - y - g s-v-k-s-t-r-y-f-1-p-s-g-w-r-sg - n - t - n - y - d - y - g - a - 1 - a - 1 - a - 4 - p i-g-a-t-v-g-y-1-g-y-s-y-t-t-s-1-1-1-8-1-t-r-1-1-5-8-y-p-8-dk-1-2-6-1-q-x-q-h-5-6-p-i-4-is-e-t-y-k-1-q-y-z-m-d-t-y-g-gq - s - g - s - p - y - i - s - g - s - s - s - t - t - Q -8-g-s-x-y-a-r-g-t-r-1-t-k-e-vf + d - n - 1 - t - n - x - k - p - t - a - q 老有する越水の範囲第1項間収の方法。

3. a 片を、タンパク質性物質を酵素関系品とのインキュペーション中、一足に保持する、酵菜の範囲第1項記載の方法。

4. タンパク質性物質と関素調製品とのインキュペーションを、 界pH-stas法によって行う、請求の範囲第1項記数の方法。

界p H − s t a t 法によって行う、共衆の穀四第!項記数の方法。 5、 タンパタ双性物質が、動物性タンパク変、例えば充無タンパク質、カゼイン、内銀タンパク質、血質タンパク質、卵点は、卵白もしくはゼラチン、又は延勤型タンパク質、例えば大連タンパク質、短期タンパク質、別えば小売グルテンもしくはゼイン、 なたねタンパク質、 むらききうまごやしタンパク質、 えんどうタンパク質、マノ科タンバク質、初の菜タンパク質又はごまの実タンパク質から近る約から遊ばれる、独次の範囲第!項記載の方法。 i. Clo及び/又はAir 転合でのタンパタ質の現立された特 異的な不永分解を得るための方法であって、以下の軽値を有する解 表:

(s) これはグルタミン酸 (Clu) 及びアスペラギン酸 (Asp) 及茲に対して特異的なセリンプロラアーゼである;

(b) これは『まの酵素ダンパク賞当り少なくとも25cpt (コピィンプロテアー安単位) の比据性を有する:

(こ)これは約23、800の気かは上の分子量を有する:

(i) これはジイソアロビルホスメフルオリデートによって迎書 されるが、フェニルメタンスルユニルフルオリドによっては恩春さ カガレ・

(a) これなら、5~10。0のヶ月の範囲においてその最大道 近の75%以上を示す:

(1) これは、B. <u>リシュニホルもス(Llchealformis</u>)の変異核を含む、<u>パンラス、ワシュニホルもス(Bacillus Lichenlformis</u>)の株によって産生まれ得るものである。

を含んでなり、その他のタンパク費分解係性と賞製的に有さない 耐度視型品をタンパク質性的製に加え、吹いで成型の加水分解の程 皮が得られるまで中性又は弱いアルカリ性のPSにてインキュペー ションし、その砂酸研究を透切に不循性化せしめることによってこ のインキュペーションを終了させ、C-末端にグルタミン酸又はア スパラギン酸強強を有するペプチドの必要をもたらず、前級方法。

2. タンパク分類酵素が、確立されな一文字コードで示される次 少でもノ酸配剤:

6. ダンパク質性物質に加えられるべる酵素の重か、0. 05~ 15cps / タンパク質100g、特に0. 1~5cps / タンパク質 100gの智額内にある。請求の範囲表し明紅配の方法。

7. 解素を、インキュペーション複合物の環度を約70で過に高めることにより、又はインキュペーション混合物のpliを約5. 0 表演は下げることによう不活性化する、解求の範囲第1項提展の方法。

8. 第一のタンパク質分別製業に加え、他のタンパク質分別開設 をタンパク変性物質に加える、提ぶの範囲第1~1項のいずれかに 記載の方法。

9. 他のタンパク質を解酵素が、トリプシンギよびトラブシンへ 様プロテアーゼから収る癖から薬ばれる、時米の範囲8項記載の方 性.

10. 第一のタンパク分解解数が、0. 05~5cpe /タンパク 質1008の製既内の量で加入られ、さらに第二のタンパク分解器 繋が9. 1~10cpu /タンパク質1098の範囲内の量で加入る れる、請求の範囲第8項配数の方法。

1 し、タンパク質加水分解物であって、以下の特徴も有するタンパク質分解研索:

(a) これはグルタもン数(Glu)及びアスパラギン数(Asp)発差に対して管具的なもリングロテフーゼである。

(を) これは多gの酵素タンパク質当り少なくとも25cps (カゼインプロテアーゼ単位) の氏透性を有する:

(c) これは約23、800の見かけ上の分子豊を有する:

(d) これはジイソプロピルホスホフルオリデートによって図書 られるが、フェニルシタンスルホニルフルオリドによっては返言されなか: (c) これはら、5~19、00p目の短頭においてその最大資 性の75%以上を示す:

(1) これば、B. リシェニ太ルミス ilicheniformin) の変異性を含む、パンラス リシュニカルミス (Bacillor Licheniformin) の数によって歴生され得る

を含んで広り、その他のタンペタ会分解法性を実質的に有さない 酵素調製品によるタンペク質のGlで及び/又はAIP結合の特異 的な加水分解の結晶としても、C-末端にグルタミン離又はアスペ ラギン酸後途を有するペプテドより米質的に収る、時間タンペク質 温水分解物。

12. タンパク質性効策が、動物性タンパク質、領えば克思タンパク質、カゼイン、刺媒タンパク質、放根タンパク質、条血球、卵白もしくはゼラチン、又は植物性タンパク質、例えば大豆タンパク質、設期タンパク質、耐えば小麦ダルチンもしくはゼイン、なたねタンパク質、むらきさうまごやしタンパク質、えんどうタンパク質、カンパク質、前の変タンパク質又はごまの劣タンパク質があら近ばれる、請求の範囲第11項記載のタンパク質が水分評物。

(3. 高い比略の1000-20,080の範疇、終ましくは1000-10,0005の範囲における分子量を育するペプラでと、低い比率の約1000失済の分子量を育するペプチドを合んで収る、鉄体の範囲供11項記載のタンバク質和水分が勢。

14. タンパク質の10および/又はAsp時合の特異的加水分解の結果としてのC-深端にグルタミン酸又はアスパラギン酸吸能 を有するペプリドとは別に、タンパク質のLysおび/又はAr お地合の特別的加水分解の結果としてのC-末端にしssおよび/

国页均主或多

特表平5-505524 (10)

又はA:8 後盛を育するペプラビを合んでなる、請求の数国界1: 項記載のチンペク質原永分解物。

- 15. 高い比率の分子量1000-10. 000を有するペプテドおよびない止率の分子量的1000表話をおするペプチドを合んでする、建梁の範疇第14項記載のタンパク質別水分解物。
- 18. 請求の範囲第11~13項のいずれかに起象のタンパク質 類水分解的合合ルでなる充品。
- 17. 時次の程図集 14 文は15 項に記載のタンパク質派水分解 数を含んでなるな品。
- 19. 1階以上の路島郡をよび/又以り親以上の次水化物郡を、 芝に合んでなる、徐泉の範囲第16又は17項配数の食品。

		regression reserve on PCIA	DC 91/00959
1 60.8	militariam of Son acres of Son acres on the	PM PP 800 1811 101 201 413	
	יש בישל של שלון מתובים של של של בישל של בישל ומתובים של בישל ו	DOWN THE INCIDENT THE INC.	
150.	À 23 J 3/30		
27 84.7	A MARKUTA		
	House despesa	45-6	
******	ne farye (neter proper	
	{		
TPES	X 22 J		
-	the second second	ht- th-	
L	an eat & work also diete delen de	ben te freder to grante ablerates	
	F1.50 classes as above		
	**		
IP DOG	uminis consideres Po el allemento		
(rayer)	- CITY OF BULBON," GOO INCOME, MARE SEE	POTENT B. SP SEMBLE WATER IN	Suppose InClude ML &
x	[EP, A2, 0925986 (MILES SME.) 2 #	wgust 1989.	3-50
ļ	SET ADSTRUCT		i
i			l .
<u> </u> _	CP. NJ. 035539P (HELLI MILK MICH	1-74 Administration	1-20
5 *	LEALTED 28 February 1550.	INC. S COMMAN	1-20
1	see sees 3, 1the 41 - Fine 4		ł
ì	200 peta 2, 10m V1 17m2 V	-	
ì			
)»	\$5, 21, 0100207 (96MF G-62) 29 A	uguez epro,	1-20
1	see abserset		
1			i
l.	Chemical Abstracts, volume 55, a		l 1-4
١*	INEX (Columns Ohia IK)	Discon Med	} "-"
í	1983, (Columns, Ohio, US), It "Entypie most ception of	milk ". we seep	}
i .	325, abscract 36830, & Patt	-fed. Tut to Sa.	l
	1582, 1476), 12- 15		
1	••		
1			B .
1	ì		l
!	ł		l
1	5		1
-	<u>1</u>		
1 3.75	EN LIMPON P SUG MOUNTS "	"Hillineiti	Street and the last the
	SATING AND INVESTIGATION WITH A PR		
1 **		The state of the s	
1 2.5		100 10 Mary 1 120	
		217	*****************
1 ** :	THE PARTY OF THE P	يم دا انوبا ڪ تم سانسا هاء ۾	
N C4	(phick page		
****	TO ACCO COMPOSITOR TO PROPERTY OF THE PARTY	the day give still by spin to growth the re-	-
1866	رور ا الاروا الاروا	991 -CS- 7 C	1
1		Personal prime to prime	
-Han	Barth & best and the same		<u> </u>
1			
	SAGOLAL PAIDAL OFFICE	Forse in Polise Janson	

	THE RESERVE OF THE PERSON OF T	
24 mg/ ~	C-jil de in gall and may jedertagar mand in bellagier in anyonen bledeten frame I talbate to de die die beren. Gibertalität betäte ten mattig gement.	101mm: 100 d ft 4 to
•	Junyte, Food Crem., %5. 35, 1955 draw-flore Onebers et all. "Solubel Hity aux Explishing Properties of Caveiers bod'field Angestically by Staughtjezoccus soreus UB Proteste", ser page 270 - 1956 224 ejsectally 230	1-20
,	1. License. WittersForsch., Vol. 150, 1976 Nordert Vieter at. als. "Departmentings cylindra Standthae und Bittyrgasenace" orthodoxia como Poptient, sea sale 32.2.	1-20
	us. A. \$100824 (MO:CP-MISSEN) 11 July 1970. see column I, lice 29 - lice 38	E-20
•	US. 1. #266053 (TANS ET AL) E May 1963,	9-80
,	NS. A. AIOSTIA (RAMINA C. JOLEY) 13 AUGUST 1970, see Calcon 2, line 31 - 110a 35; column 4; abstract	1-20

}		

特表平5-505524 (11)

医原放性电管

OCEANCE DO ABOUGA

For propriets the tanks on type by masters delivery to the district bias drawn chief to the elementary years and the set the element of the control to the district by the Chara Fell range. 21 - 5 - 2 | 31 - 5 - 2 |

dated the comme	Pepi Samue del p	de marite o de		Auchan	
EP-A2+ 03/9/26G	43-69-01	40-0-	2000189 4005330	89-08-33 92-01-16	
EP-41- 4755333	97-92-29	KU-D-	1818129	99-01-23	
EP-41- 0384323	90-61-23	•	* *********		
	**************	€! -> -	3805354	\$2-02-09	
40-43- BICITS	87 -C7-02	48-B-	59:236	89-11-30	
		40-0-	6834682 DE342E2	87-67-11	
		EP-4-	0226221	87-07-23	
		67-4-9-	Criseriei	87-05-24 84-31-67	
		JP-7-	02502003	08-69-11	
		i-	\$1502CDe	R8-89-11	
		10-A-	87.70J78%	87-07-02	
US-4- 1300024	78-07-11	#E-1-	650478	77-07-18	
		F0 - A - D-	2338361	23-08-12	
		63.4	1517923	79-06-27	
		33-6-	1112697	84-09-16	
		J2-a.	32134436	27-09-24	
		15-9-	5502752	81-18-18	
		ŭ	7,000,20	77-07-Z3	
US-A- 42H553)	61-05-05	CZ-4-	k) sall	E0-01-01	
		čil-a-	CAZZE	84-04-21	
		SE-A+	2926EDB	40-01-17	
		CP-A-Q-	6206638	80-01-07	
		P-A-8-	2430453	80-02-01	
		-B-x-60	2024530	#2-63-16	
		JK# -	7905272	\$29-01-DS	
		\$6-0-¢-	44 3661	86-13-03	
JS-4- 4107334	78 -90-15	2F-4-	F54835	78-04-12	
		Ci-a-	1064882	E1-07-03	
		DE-A-E-	2:45656	70-01-29	
		FR-4-5-	2367773	78-D5-12	
		GB-A-	1334990	70-24-29	
		D-4	53947560	78-04-18	
		LU-A-	78Z34	79-46-61	
		hl en e	7710011	74-04-17	
		5E-A-	:110423	78-0a-1¢	

第1頁の統き		
@Int. Cl.*	設別記号	庁内整理番号
C 12 P 21/08 # A 23 J 3/08 3/10 3/16		8214-4B 7236-4B 7236-4B 7236-4B
C 12 N 9/56 (C 12 N 9/56		7823-4B

優先後主張 約1991年2月6日命デンマー	7 (T) K \60199 /Q1

@発	瑚	者	モルテンセン, ステーン ペン	デンマーク国,デーコー-2880	パグスパエルト, 1. デーベ
			ニケ	ー., アルデルシビレバイ 131、	
砂 発	明	者	ブソツ,ペテル	デンマーク国,デーコーー2000	フレデリクスベルグ, ホフメヤル
				スパイ 21	
企發	咞	潪	エリクセン,スペント	デンマーク国,デーコーー3450	アレロエト, デルフインパイ 8

特表平5-505524

```
【公報程則】特許法第17条第1項及び特許法第17条の2の規定による結正の掲載
【部門区分】第1部門第1区分
【発行日】平成10年(1998)12月8日
【公表香号】特表平5-505524
【公表日】平成5年(1993)8月19日
【年通号数】
【出願香号】特願平3-506279
【国際特許分類第6版】
 A233 3/34
      3/08
      3/10
      3/16
 A23L 1/305
 C12N 9/56
 C12P 21/06
//(C12N 9/56
 C12R 1:10 )
[FI]
 A233 3/34
      3/08
      3/10
      3/16
 A23L 1/305
 C12N 9/56
 C12P 21/06
```

特表平5-505524

& W a =

*** \$ - 3755.24

1.35

を有する、技法項(二紀歳の方法)

終すの新聞を別談のとおりに又思する。

系はの方式的社会

油なの範囲

- 3. タッパタ製造物質を設ま羽積物とのインキュペーン5ヶ間、pftを一定は何つ、お取割1に混乱の方法。
- 1. タンパタ買助物質と降型器は物とのインキュペーションを、貸り出っては まで発品をって行う、前求項目に見表の方法。
- 5 またいの質量物質が、表現といれては、カゼイン、内間タンパク型、外面アンパク型、毎日本 9日ましてルビッキンの助き知物性メンパク型、広び大阪タンパク型、利達まというが、利止が大ダカチンとしくはゼイン、これロネンパケ型、たらなどさせばしょうパク型、人んどうかとは今角、マイリメンパケ型、投入ダメアンパク型ではまままという自の加き場所はよういけてはから取る場合が出た。米やボランパク型の加き場所はよういけてはから取るのから減がれた。米やボリに立場の方法。
- 8. ケンパンは住台湾に加えられるべままといり買点解析なの会か。E. 4.5 ~| 5eps ノクンパン付すりりまの研修内にある、外は漏りに足乗の方法。
- 7. インキュハーション献台の水母駅を19で超れ高めらことにより、又ロインキュペーションが今かがのHをも、日本曲に下げそことによりままを夫ばさず
 5. 胡木弥!に完璧の方法。
- 3. 第一のようべり気力特殊器に関心、数のようバス質分解は素をよっパタ質 性素質に必須する、基本値1~7のいずれを1週に変数の方法。
- ゆのケンパクはは以替えが、トリプシンのよびトリプシンーボグロデアーゼクられる資から連ばのろ、請求項をには収め方法。
- | 10 | 第一のタンパフ容分が改えが、6、 05-15の。 /タンパタ第100次 で見知が約点で加えられ、からに見むタンパタな分類が変素が0、 1-10:10 / タンパタで1009の範囲性の数で於知るため、消水質な心症性の方法。

さらない また

- 1 日1ヶ天びノスけんいり込むでのランパンなら間できれた外景的な地次分替を募えための方法であって、ほどの答びを手でもとという負責が経合な。
- `a) ブルノ! ンは (Glui 及びアスパラギン数 (ら s p) 法反にお品的に サリンプロテアーゼである:
- ・h・1メンの名やンパ・製造りまなくとも2ペepp (カセインデュニケーゼ 単位) Oは急速を有する。
 - ・ご 約23 その日の見かけ上の会子登を行せる
- (ま) グイソプロピリテスホタルオ・デートによって書店をねるか。フェニシ ノタンスキャニチフルオリドによっては国際なれない
- (1) 8. 5~16. 0の11の6四はかいてきの足大症性のできる以上を示すされて
- (1) <u>(公元で、ロジェニボキャス(Baqillos Lichaquio</u> (B<u>ia)</u> (公元本を含む、公グラス リ<u>ッエニル・ス(Baçillos</u> <u>Lichem</u> (<u>Gimis</u>) の称でいって作まれ得るものである。
- を含んであり、かつ、その他のタンパで質が耐症は不定性的に含むない時を選別できている異性的目に加え、対いて同望の印が設定が行るのとまで中比で に対さわらず低のではピオイアもペーションと、その皮温に数をを打立て失信 せしめることによってこのイミオュペーションと表打了ませて、モー声報にタルタ ミングスゴフマハラギンから暮らななが、ダチトの最初を上れらせ、同屋で生。 2、メンジス対象が複数が、果実をおか、大学ロードで示されるののでも、意
- 1 ! タンプク質的水分配を加てるって、以下の勢能も有するタンパク度分類 起来・
- (a) グルダミン数(Clus 多びアスパラギン数(Ang) 生事に持続行な セリングロテアーセである。
- くと・1 mの解析タンペタ質ガリ少なくももまちeps くのセインプロディーゼ 身体)の几階数を促する:
 - (() 新23、690の見かけ上の分子をを負する:
- くば)マイソプロピリホスキフルボッポートによって強度されるが、テェジルプテンスボホニホッルオイドによっては超声されない。
- (1) パ<u>クラス・リウィニホルして、Partillas Lichoniformit</u>) の変異体を含む、パンフス マントニものはで、じょうにはしまる <u>Lichen・formit</u>」の認识とって死々され着もものである。
- を含んでなり、かつ、もの他のフェバク賞分別ではませないはまま 対称によう、GIセスロノメロミョリにあてのデンベク質の行及的な別は対けの 応差として、C-七端にグラグ・ン陸又はアスパラダン依代者を下げるパプチド から本質にによる。ほぼフンパケスな本が打立法。
- 13、高い見不の、000 29 000の範囲のの子皇を有すされてすり と、我に生命者の1000年後の分下最を有するれてもする会せ、異な知りした 記載のついたの数的字対解数型。
- 14. G 1 11 時ものく大れ名も P 部位でむタンパク 真の内閣の知案分配の効果 としてC 一本記にグルテミン職ではブスパラギンの発表を有するペプテトと出め

待表平5-505524

ニ、しょおものパマはA:4曲のでのアンバン河の約300年が立ては深としてのくってボニしていまれたパマはA・5両辺を有するペプテギを点む、混乱がしてはA・5両辺を有するペプテギを点む、混乱がしてに変数のアンバン関連を3年間で、

- 12、高い表子の分子は2でダラー10、90をを身するベブチドカンジのい 走子の分子型の10×0方為を行するパブでデを表で、四本項1をご覧ものタンパブ質和本的経営机。
- | 1 | 第条項1:気は1つに記載のタンパケ世間を分析を担を合むせは、
- 18、18公下の動語信息よびが又出り登収上の収水は転換を、要用金が、原 基項16天は17年記憶の出象。

This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

□ BLACK BORDERS
 □ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
 □ FADED TEXT OR DRAWING
 □ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
 □ SKEWED/SLANTED IMAGES
 □ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
 □ GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☐ OTHER:

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY